

Nikotin ve Deri

Uzm. Dr. Aylin Kalaycıyan*, Prof. Dr. Server Serdaroğlu*

* İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı

Özet

Tütün kullanımı ve olumsuz etkileri gündemde olan bir konudur. Son yıllarda kalp ve damar hastalıkları, akciğer kanseri başta olmak üzere diğer malinitelerde önlenabilir temel sebep olarak görülmektedir. Ancak tütünün içeriğindeki temel maddelerden biri olan nikotinin insan ve hayvanlarda doğal bir nörotransmitter madde olduğunun keşfi ile bu maddeye karşı olan bakış açısı değişmektedir. Bu yazıda tütünün içeriği, nikotinik reseptörler ve hücreler üzerindeki etkileri incelenecek ve bu bağlamda özellikle dermatozlarda olası kullanım alanları için ümit verici fikirler oluşturulmaya çalışılacaktır. Dermatose 2005; 4(3): 127-133

Summary

Nicotine and Skin

Smoking and its unwanted effects have been the current topic of concern. Recently, smoking has been regarded as one of the major preventible causes of cardiovascular diseases and malignancies, lung cancer in the first place. However as the major ingredient of tobacco, namely nicotine, is demonstrated to be a natural neurotransmitter in humans and animals, a different point of view is about to form for nicotine. In this review, the ingredients of tobacco, nicotinic receptors and the effects on cells will be reviewed and new possible applications of nicotine in various dermatoses will be discussed. Dermatose 2005; 4(3): 127-133

Sigara kullanımı batıda yılda 5 ölüm vakasından birini teşkil eden, temel önlenabilir hastalık ve ölüm sebeplerinin başında gelmektedir. Birçok istenmeyen etkilerinin yanı sıra sigara kullanımı bazı hastalıklarda fayda sağlayabilir. Son 20 yıl içinde sigara kullanımının çeşitli organ sistemleri üzerine yarattığı olumsuz etkiler yoğun bir şekilde incelenmişse de, olası yararlarına çok az değinilmiştir. Sigara kullanımının yaratabileceği olumlu etkileri ortaya çıkarmak hiç bir şekilde kişileri sigara içmeye yönlentmek veya onları sigarayı bırakmalarını engellemek maksadını gütmemektedir. Tütün kullanımının deri hastalıkları üzerindeki olumlu etkilerini bilmek hem hastalık patogenezi daha iyi anlamaya yardımcı olacak hem de tütün kullanımının olumsuz ve olumlu etkilerinin daha net anlaşılmasını sağlayacaktır.

Tütün Bitkisi ve Nikotin

Tütün yaprakları veya özü şamanlar ve yerli kabile hekimleri tarafından yara bakımı için kullanılmıştır. Portekizdeki Fransa elçisi Jean Nicot de Villemain 1560 yılında bitkiyi Avrupa'ya

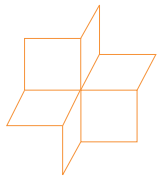
getirmiş ve tıbbi kullanımı hakkında raporlar yazmıştır.¹ Daha sonra ismi bitkiye verilmiş (*Nicotiana tabacum*) ve uyarıcı alkaloidin adı da nikotin olmuştur.

Nicotiana tabacum, yani tütün bitkisi Solanaceae ailesinin bir üyesidir. Solanaceae ailesinden olan patates, domates, patlıcan ve biber gibi bazı sebzelerde düşük miktarda nikotin bulunmaktadır. Bu familyadan olmayan karnıbahar ve çayda da nikotin tespit edilmiştir. Nikotinin barsak biyoyararlılığı (ortalama %20) sigara dumanındaki (ortalama %90) oranla oldukça düşüktür. Nikotin hızla tüm dokulara dağılır ve çoğu karaciğerde, bir miktar da akciğerlerde olmak üzere metabolize olur ve böbrekten atılır. Gıdalardaki nikotin miktarı üzerine sadece 5 adet çalışma bulunmaktadır.²⁻⁶ Bu araştırmalarda elde edilen gıdalardaki nikotin oranları tablo 1'de özetlenmiştir.

Sigaranın içinde nikotin dışında binlerce madde bulunmaktadır. Bu maddelerin olası etkileri nikotin kadar çok araştırılmamıştır. Bu maddelerin çoğu gıda endüstrisinde katkı maddesi veya koruyucu olarak kullanılmaktadır. Ancak gastrointestinal yolla alınan bu maddelerin etkilerinin, yanarak ortaya çıkan ürünlerin etkilerinden farklı olacağını düşünmek yanlış olmaz.

Anahtar kelime: Nikotin, asetilkolin, inflamasyon.

Key word: Nicotine, acetylcholine, inflammation.

**Tablo 1. Domates, Patates, Patlıcan, Karnibahar ve Biberdeki Nikotin ($\mu\text{g}/\text{kg}$) Miktarları**

Gıdalar Nikotin ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Castro et al., 1986	Davis et al., 1991	Domino et al., 1993	Siegmund et al., 1999
Patates	-	Kabuk: 15.3 Soyulmuş: 4.8	7.1	4.5
Kızarmış patates	-	-	-	Kızarmış patates: 11.5
Olgun domates	6.0	9.6	4.1	2.4
Ham domates	14.2	-	-	8.2
İşlenmiş domates	Soyulmuş: 52.0 Püre: 11.0 Sos: 3.0	-	-	Ketçap: 7.3 Püre: 5.3 Sos: 4.5
Patlıcan	100.0	0	-	1.9
Karnibahar	-	16.8	3.8	-
Yeşil biber	5.7	0	-	5.8
Sarı biber	-	-	-	9.0
Kırmızı biber	-	-	-	5.9

Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri ve İşlevleri

Asetilkolinin iki tip reseptörü vardır: nikotinik (nAChR) ve muskarinik (mAChR). Nikotin bir asetilkolin agonistidir ve nikotinik reseptörler aracılığıyla etkir.⁷ nAChR ilk defa sinir-kas sinapsında tespit edilmiş olan ancak daha sonra tüm sinir sisteminde ve nöronal olmayan hücrelerde de var olduğu saptanan 290kDa ağırlığında bir proteindir.⁸ Nikotin $\alpha 9$ kanalı hariç tüm nAChR'nin agonistidir.⁹ Deride hem mAChR hem de nAChR bulunmaktadır.^{10,11}

ACh temel rolü sinir iletimi olsa da tüm hücreler tarafından üretilen ve epidermis ve diğer yüzey epitel tiplerinde oldukça yoğun miktarda bulunan bir maddedir.¹²⁻¹⁶ ACh'in değişik hücre tiplerinde biyolojik etkiler yaratarak otokrin ve parakrin yolla doku hemostazı sağladığı kesinlik kazanmıştır.¹⁷ nAChR'leri Na^+ ve Ca^{2+} girişi ve K^+ çıkışı ile yönetilen klasik ligand-kapılı iyon kanal proteinleri veya iyonotropik reseptörlerdir.¹⁸ Altünite kompozisyonları bu reseptörlere değişik işlevsel ve farmakolojik özellikler kazandırmaktadır. 17 adet nAChR altünite geni pentamerik bir protein kodlar ve bu genler 9 adet α ($\alpha 2$ - $\alpha 10$), 3 adet β ($\beta 2$ - $\beta 4$), γ , δ ve ϵ olarak adlandırılır.¹⁹ RT-PCR ile insan keratinositlerinde $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$ ve $\beta 4$ altüniteleri saptanmıştır.^{10,19-22}

ACh'in derideki biyolojik etkileri hücre döngüsünün her fazında farklı nAChR ile ilişkilendirilmiş hücre içi sinyaller aracılığıyla gerçekleşmektedir.^{9,23} Keratinositlerde nAChR'lerin hücre çoğalması, farklılaşması, adezyonu ve motilitesini kontrol ettiği ve keratinosit nAChR'lerinin bu hücreler tarafından sentezlenen ACh tarafından sürekli olarak uyarılmasının

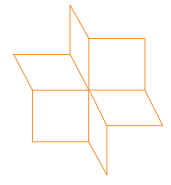
hücrenin hayatta kalması için çok önemli bir faktör olduğu görülmüştür.²² $\alpha 7$ altünitesi, deri, oral mukoza, özofagus, trake ve bronş epitelinde yoğun olarak eksprese edilmektedir. Bu bölgelerde nikotinerjik uyarım kalsiyum, endotel hücreleri, büyük hava yollarını kaplayan hücreler, damarlar, alveolar tip II hücreleri, serbest alveolar makrofajlar ve pulmoner nöroendokrin hücrelerin hücre metabolizmasını değiştirmektedir.^{10,21,24-26}

Keratinosit üzerindeki etki

İnsan keratinositleri ACh'i sentezler, salgılar ve yıkar.¹² Yenidoğan prepusyum derisinden izole edilen olgun keratinositlerde hücre başına ortalama 35400 adet nAChR bağlanma noktası bulunur.¹⁰ Bu reseptörler $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$ ve $\beta 4$ altüniteleri içerirler.^{10,19,24,27,28}

Nikotin kültürdeki keratinositlerde hücre-sübrat ve hücre-hücre adezyonunu ve lateral migrasyonu artırır.¹⁰ $\alpha 3$, $\alpha 9$ ve mAChR'leri muhtemelen kaderin ve katenin düzeylerini etkileyerek ve desmoglein 1 ve 3 ekspresyonunu ve desmoglein 3 fosforilasyon düzeyini değiştirip desmozomal keratinosit adezyonunu düzenleyerek hücre adezyonunu düzenler.^{29,30} Nikotin ayrıca hücre içine kalsiyum girişini artırarak ve keratin 10, transglutaminaz 1, involucrin ve filaggrin ekspresyonunu artırarak keratinosit farklılaşmasını da düzenler.²⁰ 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 'ye kadar olan nikotin konsantrasyonları iritan değildir ancak deride kornifikasyona yol açar ve skuamlaşmayı indükler.^{9,20,31,32} Nikotin keratinositler üzerine etkileri sadece deri ile sınırlı değildir. Benzer etkiler oral mukozada da gözlenmektedir. Keratinositlerde bulunan $\alpha 7$ nAChR'nün epidermal keratinositlerde özellikle deri bariyeri oluşumu için gerekli olan homeostazı terminal farklılaşmayı kontrol ettiği gösterilmiştir. Arredondo ve ark., asetilkolinin (ACh) $\alpha 7$ nAChR aracılığı ile hücre döngüsünün ilerlemesini sağlayan genler, apoptotik genler ve terminal farklılaşma genlerinin ekspresyonunu artırarak epidermiste keratinosit gelişiminin son safhalarını kontrol ettiğini göstermiştir.²⁸

nAChR altüniteleri epidermis katmanlarında farklı kombinasyonlar halinde bulunmaktadır. ACh ve kalsiyum en yoğun olarak granüler tabakada bulunmaktadır. $\alpha 7$ gibi homooligomerik nAChR'lerinin özellikle bu alanda bulunması keratinositlerde terminal farklılaşma ve bariyer fonksiyondan sorumlu olduklarını göstermektedir. Homooligomerik $\alpha 7$ ve $\alpha 9$ nACh-R altüniteleri epidermiste özel bir dizilim göstermektedir. $\alpha 9$ nAChR'leri bazal tabakada ve alt suprabazal tabakada daha belirgin iken, $\alpha 7$ nAChR'leri üst



stratum spinosum ve stratum granulozumda $\alpha 10$ ve $\beta 1$ ile birlikte bulunmaktadır.^{19,33,34} İnsan kıl foliküllerinde ve sebace bezlerde de farklı nAChR altünite paternleri izlenmektedir.³⁵

Fibroblastlar üzerindeki etki

İnsan fibroblastlarında $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$ ve $\beta 4$ nAChR altüniteleri bulunmaktadır.³⁶ Bu hücrelerin nikotine maruz kalması ile birlikte hücre döngüsü düzenleyicileri olan p21, siklin D1, Ki-67 ve PCNA'nın mRNA ve protein düzeyleri artar ve apoptoz düzenleyicileri olan Bcl-2 ve kaspaz 3 artar.³⁶ Nikotin ayrıca dermal matriks proteinleri olan kolajen tip I $\alpha 1$, elastin ve matriks metalloproteinaz-1'in ekspresyonunu artırır.³⁶ Bu etkiler farklı altünitelerce yönetilmektedir.³⁷ Dolayısıyla tütün kullanımının derideki hücre dışı matriks döngüsü üzerindeki patobiyolojik etkilerinde bazıları, fibroblastların genetik olarak programlanmış büyüme ve doku şekillenmesi işlevlerinin fizyolojik kontrolü üzerinde nikotine bağlı olası değişiklikler ve fibroblast nAChR'lerinde yapısal ve işlevsel değişikliklerden kaynaklanabileceği düşünülebilir.

Damarlar üzerindeki etki

Tek bir sigara içilmesi dahi sürekli içenlerde veya içmeyenlerde derideki kan akımını azaltmaktadır. Ayrıca sigara içenlerde görülen daha yavaş toparlanma süresi mikrodolaşımın sigaraya alıştığını düşündürmektedir.³⁸ Nikotin vazokonstriksiyon ve hipoksemiden sorumlu tek faktör değildir.³⁹ Ancak damarsal ağ kolinerjik sistemin yönetimindedir. nAChR'leri kaslarda ve endotel hücrelerinde eksprese edilmektedir ve sinapslarda ACh salgılanmaktadır.⁴⁰ Nikotin deride jinjivaya oranla daha fazla vazokonstriksiyona neden olur ve lokal hiperemi buna eşlik eder.⁴¹

Heeschen ve ark. nikotinin in vitro ve in vivo şartlarda anjiyojenezi uyardığını göstermişlerdir.⁴² In vitro ortamda nikotin endotel hücrelerinde proliferasyonu ve tüp oluşumunu arttırmıştır.⁴³ Ayrıca bir iskemik uzuv mürin modelinde intramüsküler nikotin enjeksiyonları kapiller yoğunluğu, kollateral sayısı ve çapını ve kan akımını arttırmıştır.⁴² Nikotinin anjiyojenik etkileri nAChR tarafından yürütülmektedir. Bu reseptörlerin uyarılması ile, anjiyojenik faktörlerinkine benzer şekilde kültürdeki endotel hücrelerinde ebat, şekil ve işlev değişiklikleri görülmüştür.^{44,45} Nikotinin, insan ve köpeklerde endotel nitrik oksit sentaz aktivitesini ve prostasiklin salgılanmasını değiştirdiği gösterilmiştir.⁴⁶⁻⁴⁸ Nikotin ve majör metaboliti olan kotininin endotel hücrelerinde vasküler endotelial büyüme faktörünü (VEGF) arttırdığı gösterilmiştir.^{49,50}

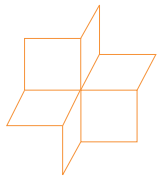
İnflamasyon üzerindeki etki

Nikotin santral ve perifer sinir sistemi aracılığı ile inflamasyonu baskılar.⁵¹ In vitro çalışmalar nikotinin nötrofiller için kemoatraktif olduğunu ve düşük konsantrasyonlarda (sigara içenlerin plazma seviyesi kadar) kemotaktik peptidlere olan yanıtı arttırdığını göstermiştir.⁵² Nikotin nötrofillerden hem enfeksiyona karşı savunmada hem de anti-tümör etkisi önemli olan enzim ve süperoksit salınımını engeller.⁵³ $\alpha 7$ nAChR altünitesi makrofaj tümör nekroz faktörü (TNF) salınımının engellenmesi için gereklidir.⁵⁴ Nikotin ayrıca direkt olarak T lenfositlerle etkileşerek immün sistemi etkilemektedir.⁵⁵ Transdermal nikotin bantlarının uygulanmasını takiben sodyum lauril sülfata olan yanıt ve UVB'ye karşı eritem yanıtı baskılanmış ancak deri kan akımı etkilenmemiştir.^{56,57} Bu sonuçlar tütün içersindeki farklı maddelerin damar sistemi üzerinde etkili olduğunu ve nikotinin tek başına terapötik amaçla kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlara karşın periodontal inflamatuvar hastalıklar sürekli tütün kullananlarda oldukça yaygındır. Nikotin kolon ve ince barsakta da farklı etkiler göstermektedir.⁵⁸ Bu tarz bölgesel etkiler deri ve mukozada da gözlenebilir.

Bir araştırmada dumansız tütün kullanan hastaların %56'sında dumansız tütünün uygulandığı alanda 7 gün içinde beyaz lezyonların belirdiği gözlenmiştir.⁵⁹ Prostaglandin E2 (PgE2) ve interlekin-1 (IL-1) gibi inflamatuvar mediatörler bu alanlarda yüksek oranda bulunmuş ve IL-1 sabit lezyonda sebat etmiştir.^{59,60} Ayrıca her ikisi de hiperplastik epitelyal lezyon gelişiminde önemli olan keratinosit proliferasyonunda etkili bulunmuştur.^{61,62} Bizim çalışmamızda IL-1 endotel hücrelerinde veya keratinositlerde saptanamamıştır.⁵⁰

Sigara içmenin immün yanıtı olan etkisi hakkında güçlü deliller vardır.⁶³ İnflamasyonun baskılandığı gösterilmiştir.⁶⁴⁻⁶⁶ Bizim çalışmamızda da Behçet hastalarının serumları ile inkübe edilen endotel hücreleri ve keratinositlerde IL-6 ve IL-8 düzeylerinde nikotin ile belirgin düşüş sağlanmıştır.⁵⁰ Bakteriyel enfeksiyonlarda nötrofiller ilk defanstan sorumludur. Sigara içenlerde her ne kadar perifer kanda nötrofil sayısı artmışsa da işlevleri bozuktur.⁶⁷ Sigara içenlerin nötrofillerinde kemotaksiste, fagositöz ve adezyonda azalma görülmüştür.⁶⁸⁻⁷⁰ Ancak birçok araştırmada sigara içen ve içmeyenlerde oral kavitede bakteri tipleri arasında bir farklılık gözlenmemiştir.⁷¹⁻⁷⁴

Antikor oluşumu da sigara kullanımı ile değişen immünolojik durumlardan biridir. Sigara serum IgG konsantrasyonunu

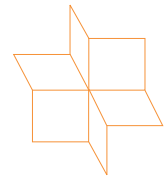


azaltmaktadır.⁷⁵⁻⁷⁶ Bunun nedeninin sigaranın T lenfositlerde proliferasyonu azaltması ve dolayısıyla B lenfosit işlevleri ve antikör oluşumunu etkilemesi olduğu düşünülmektedir.⁶³ Diğer tütün komponentlerin de hücrelere toksik etki yapabileceği düşünülmelidir. Akrolein ve asetaldehid gibi uçucu komponentlerin jiniyal fibroblast proliferasyonunu ve adezyonunu engellediği ve bu sayede periodontit gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir.⁷⁷⁻⁷⁹ Nikotin her ne kadar keratinositlerde IL-1 α ve IL-1 β üretimini arttırsa da perifer veya jiniyal mononükleer hücrelerde bu etkiyi göstermemektedir.⁸⁰⁻⁸² Bu veriler nikotinin değişik hücrelerde farklı etkiler yaratabileceğini göstermektedir. Bunun dışında tütün içinde nikotin dışında binlerce aktif madde bulunmaktadır ve bu maddelerin olası etkileri nikotin kadar yoğun araştırılmamıştır.

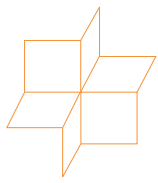
Wang ve ark. sepsis fare modelinde nikotinin anti-inflamatuvar etkisini göstermişlerdir.⁸³ "Kolinerjik anti-inflamatuvar mekanizma" olarak adlandırılan sistemde, afferent vagus sinir liflerinin endotoksin veya proinflamatuvar sitokinler tarafından uyarılması sonucu hipotalamik-hipofizer-adrenal anti-inflamatuvar yanıt gerçekleşir ve anti-inflamatuvar sinyaller efferent vagus sinir lifleri ile taşınır.⁸⁴ Bu sistem temel olarak makrofajlarda bulunan nAChR ile kontrol edilmektedir. ACh'in bağlanmasıyla nükleer faktör (NF- κ B) aktivitesi azalır ve inflamatuvar sitokin üretimi düşer. Farelerde ölümcül endotoksemi esnasında bu sistemin vagus sinirinin doğrudan elektriksel uyarımı ile devreye sokulması sonucu hepatik TNF- α sentezi azalmakta ve dolayısıyla serum düzeyi düşerek şok gelişimi engellenmektedir.⁸⁵ Wang ve ark. bu sistemi α 7 nAChR aracılığı ile nikotin kullanarak devreye sokmuşlar ve polimikrobiyal peritonitli farelerde mortaliteyi azalttığını göstermişlerdir.⁸³

Kaynaklar

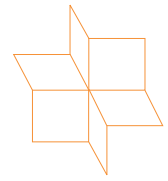
1. Haas LF. Jean Nicot 1530-1600. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55: 430.
2. Castro A, Monji N. Dietary nicotine and its significance in studies on tobacco smoking. *Biomed Arch* 1986; 2: 91-97.
3. Davis RA, Stiles MF, de Bethizy JD, Reynolds JH. Dietary intake: a source of urinary cotinine. *Food Chem Toxicol* 1991; 29: 821-827.
4. Domino EF, Hornbach E, Demana T. Relevance of nicotine content of common vegetables to the identification of passive tobacco smoke. *Med Sci Res* 1993; 21: 571-572.
5. Siegmund B, Leitner E, Pfannhauser W. Determination of the nicotine content of various edible nightshades (Solanaceae) and their products and estimation of the associated dietary nicotine intake. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 3113-3120 (Abstr.).
6. Sheen SJ. Detection of nicotine in foods and plant material. *J Food Sci* 1988; 53: 1572-1573.
7. Kelley AE. Nicotinic receptors: addiction's smoking gun? *Nat Med* 2002; 8: 447-449.
8. Unwin N. Acetylcholine receptor channel imaged in the open state. *Nature* 1995; 373: 37-43.
9. Grando SA. Receptor-mediated action of nicotine in human skin. *Int J Dermatol* 2001; 40: 691-693.
10. Grando SA, Horton RM, Pereira EFR et al. A nicotinic acetylcholine receptor regulating cell adhesion and motility is expressed on human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 774-781.
11. Grando SA, Zelickson BD, Kist DA et al. Keratinocyte muscarinic acetylcholine receptors: immunolocalization and partial characterization. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 95-100.
12. Grando SA, Kist DA, Qi M, Dahl MV. Human keratinocytes synthesize, secrete and degrade acetylcholine. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 32-36.
13. Wessler I, Kirkpatrick CJ, Racke K. The cholinergic 'pitfall': acetylcholine, a universal cell molecule in biological systems, including humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26: 198-205.
14. Whittaker VP. Identification of acetylcholine and related esters of biological origin. In: Eichler O, Farah A, Koelle GB, editors. *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*, Bd. 15, Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 1963. p. 1-39.
15. Sastry BVR, Sadavongivad C. Cholinergic systems in non-nervous tissues. *Pharm Rev* 1979; 30: 65-132.
16. Kawashima K, Fujii T. Extraneuronal cholinergic system in lymphocytes. *Pharm & Therap* 2000; 86: 29-48.
17. Wessler I, Kirkpatrick CJ, Racke K. Non-neuronal acetylcholine, a locally acting molecule, widely distributed in biological systems: expression and function in humans. *Pharmacol Ther* 1998; 77: 59-79.
18. Steinbach JH. Mechanism of action of the nicotinic acetylcholine receptor. In *The Biology Of Nicotine Dependence*. Vol. 152. G. Bock and J. Marsh, editors. John Wiley and Sons Ltd., New York. 1990; p53-61.
19. Sgard F, Charpantier E, Bertrand S, Walker N, Caput D, Graham D, Bertrand D, Besnard F. A novel human nicotinic receptor subunit, α 10, that confers functionality to the α 9-subunit. *Mol Pharmacol* 2002; 61: 150-159.
20. Grando SA, Horton RM, Mauro TM, Kist DA, Lee TX, Dahl MV. Activation of keratinocyte nicotinic cholinergic receptors stimulates calcium influx and enhances cell differentiation. *J Invest Dermatol* 1996; 107: 412-418.



21. Nguyen VT, Hall LL, Gallacher G, Ndoye A, Jolkovsky DL, Webber RJ, Buchli R, Grando SA. Choline acetyltransferase, acetylcholinesterase, and nicotinic acetylcholine receptors of human gingival and esophageal epithelia. *J Dent Res* 2000; 79: 939-949.
22. Nguyen VT, Ndoye A, Hall LL, Zia S, Arredondo J, Chernyavsky AI, Kist DA, Zelickson BD, Lawry MA, Grando SA. Programmed cell death of keratinocytes culminates in apoptotic secretion of a humectant upon secretagogue action of acetylcholine. *J Cell Sci* 2000; 114: 1189-1204.
23. Grando SA. Biological functions of keratinocyte cholinergic receptors. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1997; 2: 41-48.
24. Zia S, Ndoye A, Nguyen VT, Grando SA. Nicotine enhances expression of the α_3 , α_4 , α_5 , and α_7 nicotinic receptors modulating calcium metabolism and regulating adhesion and motility of respiratory epithelial cells. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997; 97: 243-262.
25. Wang Y, Pereira EF, Maus AD, Ostlie NS, Navaneetham D, Lei S, Albuquerque EX, Conti-Fine BM. Human branchial epithelial and endothelial cells express alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Mol Pharmacol* 2001; 60: 1201-1209.
26. Sekhon HS, Jia Y, Raab R, Kuryatov A, Pankow JF, Whittsett JA, Lindstrom J, Spindel ER. Prenatal nicotine increases pulmonary α_7 nicotinic receptor expression and alters fetal lung development in monkeys. *J Clin Invest* 1999; 103: 637-647.
27. Nguyen VT, Ndoye SA, Grando SA. Novel human alpha 9 acetylcholine receptor regulating keratinocyte adhesion is targeted by pemphigus vulgaris autoimmunity. *Am J Pathol* 2000; 157: 1377-1391.
28. Arredondo J, Nguyen V T, Chernyavsky A I et al. Central role of alpha 7 nicotinic receptor in differentiation of the stratificatious squamous epithelium. *J Cell Biol* 2002; 159: 325-336.
29. Nguyen VT, Chernyavsky AI, Arredondo J et al. Synergistic control of keratinocyte adhesion through muscarinic and nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *Exp Cell Res* 2004; 294: 534-549.
30. Nguyen VT, Arredondo J, Chernyavsky AI et al. Keratinocyte acetylcholine receptors regulate cell adhesion. *Life Sci* 2003; 72: 2081-2085.
31. Theilig C, Bernd A, Ramirez-Bosca A et al. Reactions of human keratinocytes in vitro after application of nicotine. *Skin Pharmacol* 1994; 7: 307-315.
32. Kwon OS, Chung JH, Cho KH. Nicotine-enhanced epithelial differentiation in reconstructed human oral mucosa in vitro. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 1999; 12: 227-234.
33. Lips KS, Pfeil U, Kummer W. Coexpression of α_9 and α_{10} nicotinic acetylcholine receptor subunits in rat dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience* 2002; 115: 1-5.
34. Elgoyhen AB, Vetter DE, Katz E, Rothlin CV, Heinemann SF, Boulter J. α_{10} : a determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear mechanosensory hair cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3501-3506.
35. Haberberger RV, Pfeil U, Lips KS, Kummer W. Expression of the high-affinity choline transporter, CHT1, in the neuronal and non-neuronal cholinergic system of human and rat skin. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 943-948.
36. Arredondo J, Hall LL, Ndoye A et al. Central role of fibroblast α_3 nicotinic acetylcholine receptor in mediating cutaneous effects of nicotine. *Lab Invest* 2003; 83: 207-225.
37. Arredondo J, Nguyen VT, Chernyavsky AI et al. Functional role of alpha 7 nicotinic receptor in physiological control of cutaneous homeostasis. *Life Sci* 2003; 72: 2063-2067.
38. Monfrecola G, Riccio G, Savarese C et al. The acute effect of smoking on cutaneous microcirculation blood flow in habitual smokers and nonsmokers. *Dermatology* 1998; 197: 115-118.
39. Leow Y H, Maibach H. Cigarette smoking, cutaneous vasculature, and tissue oxygen. *Clin Dermatol* 1998; 16: 579-584.
40. Conti-Fine B M, Navaneetham D, Lei S et al. Neuronal nicotinic receptors in non-neuronal cells: new mediators of tobacco toxicity? *Eur J Pharmacol* 2000; 393: 279-294.
41. Mavropoulos A, Aars H, Brodin P. Hyperaemic response to cigarette smoking in healthy gingiva. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 214-221.
42. Heeschen C, Jang JJ, Pathak A, Kaji S, Hu BS, Tsao P, Johnson F, Cooke JP. Nicotine is an agent of angiogenesis: a pathophysiological link to cancer and atherosclerosis. *Nat Med* 2001; 7: 833-839.
43. Macklin KD, Maus AD, Pereira EF, Albuquerque EX, Conti-Fine BM. Human vascular endothelial cells express functional nicotinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 287: 435-439.
44. Villablanca AC. Nicotine stimulates DNA synthesis and proliferation in vascular endothelial cells in vitro. *J Appl Physiol* 1998; 84: 2089-2098.
45. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992; 267: 10931-10934.
46. Tonnessen BH, Severson SR, Hurt RD, Miller VM. Modulation of nitric-oxide synthase by nicotine. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 601-606.
47. Zhang S, Day I, Ye S. Nicotine-induced changes in gene expression by human coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis* 2001; 154: 277-283.
48. Bouterin-Falson O, Blaes N. Nicotine increases basal prostacyclin production and DNA synthesis of human endothelial cells in primary cultures. *Nouv Rev Fr Hematol* 1990; 32: 253-258 (Abstr.).



49. Conklin BS, Zhao W, Zhong DS, Chen C. Nicotine and cotinine up-regulate vascular endothelial growth factor expression in endothelial cells. *Am J Pathol* 2002; 160: 413-418.
50. Kalaycıyan A, Orawa H, Fimmel S, Perschel FH, González JB, Fitzner RG, Orfanos CE, Zouboulis ChC. Nicotine and biochanin A, but not cigarette smoke, induce anti-inflammatory effects on keratinocytes and endothelial cells in patients with behçet's disease. XI. International Conference of Behçet's Disease Poster Kitapçığı. 27-31 Ekim 2004 – Antalya.
51. Miao FJ, Green PG, Benowitz N et al. Central terminals of nociceptors are targets for nicotine suppression of inflammation. *Neuroscience* 2004; 123: 777-784.
52. Lotti N, MacCusker EJ, Campbell A. Nicotine is chemotactic for neutrophils and enhances neutrophil responsiveness to chemotactic peptides. *Science* 1984; 223: 169-171.
53. Sasagawa S, Suzuki K, Sakatain T. Effects of nicotine on the functions of human polymorphonuclear leukocytes in vitro. *J Leukoc Biol* 1985; 37: 493-502 (Abstr.)
54. Wang H, Yu M, Ochani M et al. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 2003; 421: 384-388.
55. Sopori ML, Kozak W, Savage SM et al. Effect of nicotine on the immune system: possible regulation of immune responses by central and peripheral mechanisms. *Psychoneuroendocrinology* 1998; 23: 189-204.
56. Mills C. Cigarette smoking, cutaneous immunity, and inflammatory response. *Clin Dermatol* 1998; 16: 589-594.
57. Müller P, Imhof PR, Mauli D. Human pharmacological investigations of a transdermal nicotine system. *Method Find. Exp Clin Pharmacol* 1989; 197-204 (Abstr.)
58. Eliakim R, Karmeli F. Divergent effects of nicotine administration on cytokine levels in rat small bowel mucosa, colonic mucosa, and blood. *Isr Med Assoc J* 2003; 5: 178-180 (Abstr.)
59. Johnson GK, Payne JB, Fili JM, Reinhardt RA, Organ CC, Slager SL. Development of smokeless tobacco-induced oral mucosal lesions. *J Oral Pathol Med* 1998; 27: 388-394.
60. Johnson GK, Poore TK, Squier CA, Wertz PW, Reinhardt RA, Vincent SD. Prostaglandin E2 and interleukin-1 levels in smokeless tobacco-induced oral mucosal lesions. *J Periodontal Res* 1994; 29: 430-438.
61. Pentland AP, Needleman P. Modulation of keratinocyte proliferation in vitro by endogenous prostaglandin synthesis. *J Clin Invest* 1986; 77: 246-251.
62. Sauder DN, Stanulis-Praeger BM, Gilchrist BA. Autocrine growth stimulation of human keratinocytes by epidermal cell-derived thymocyte-activating factor: implications for skin aging. *Arch Dermatol Res* 1988; 280: 71-76.
63. Barbour SE, Nakashima K, Zhang JB, et al. Tobacco and smoking: environmental factors that modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8: 437-460.
64. Lie MA, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA. Evaluation of 2 methods to assess gingival bleeding in smokers and non-smokers in natural and experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 695-700.
65. Bergstrom J. Oral hygiene compliance and gingivitis expression in cigarette smokers. *Scand J Dent Res* 1990; 98: 497-503.
66. Preber H, Bergstrom J. Occurrence of gingival bleeding in smoker and non-smoker patients. *Acta Odontol Scand* 1985; 43: 315-320.
67. Noble RC, Penny BB. Comparison of leukocyte count and function in smoking and nonsmoking young men. *Infect Immun* 1975; 12: 550-555.
68. MacFarlane GD, Herzberg MC, Wolff LF, Hardie NA. Refractory periodontitis associated with abnormal polymorphonuclear leukocyte phagocytosis and cigarette smoking. *J Periodontol* 1992; 63: 908-913.
69. Kraal JH, Kenney EB. The response of polymorphonuclear leukocytes to chemotactic stimulation for smokers and non-smokers. *J Periodontal Res* 1979; 14: 383-389.
70. Kenney EB, Kraal JH, Saxe SR, Jones J. The effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leukocytes. *J Periodontal Res* 1977; 12: 227-234.
71. Stoltenberg JL, Osborn JB, Pihlstrom BL, et al. Association between cigarette smoking, bacterial pathogens, and periodontal status. *J Periodontol* 1993; 64: 1225-1230.
72. Preber H, Bergstrom J, Linder LE. Occurrence of periopathogens in smoker and non-smoker patients. *J Clin Periodontol* 1992; 19: 667-671.
73. Kenney EB, Saxe SR, Bowles RD. The effect of cigarette smoking on anaerobiosis in the oral cavity. *J Periodontol* 1975; 46: 82-85.
74. Darby IB, Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF. Microbial comparison of smoker and non-smoker adult and earlyonset periodontitis patients by polymerase chain reaction. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 417-424.
75. Quinn SM, Zhang JB, Gunsolley JC, Schenkein JG, Schenkein HA, Tew JG. Influence of smoking and race on immunoglobulin G subclass concentrations in early-onset periodontitis patients. *Infect Immun* 1996;64:2500-5.
76. McSharry C, Banham SW, Boyd G. Effect of cigarette smoking on the antibody response to inhaled antigens and the prevalence of extrinsic allergic alveolitis among pigeon breeders. *Clin Allergy* 1985;15:487-94.
77. Raulin LA, McPherson JCd, McQuade MJ, Hanson BS. The effect of nicotine on the attachment of human fibroblasts to glass and human root surfaces in vitro. *J Periodontol* 1988;59:318-25.
78. Tanur E, McQuade MJ, McPherson JC, Al-Hashimi IH, Rivera-Hidalgo F. Effects of nicotine on the strength of attachment of gingival fibroblasts to glass and non-diseased human root surfaces. *J Periodontol* 2000;71:717-22.



79. Cattaneo V, Cetta G, Rota C, et al. Volatile components of cigarette smoke: effect of acrolein and acetaldehyde on human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 2000;71:425-32.
80. Payne JB, Johnson GK, Reinhardt RA, Dyer JK, Maze CA, Dunning DG. Nicotine effects on PGE2 and IL-1 beta release by LPS-treated human monocytes. *J Periodontal Res* 1996;31:99-104.
81. Johnson GK, Organ CC. Prostaglandin E2 and interleukin-1 concentrations in nicotine-exposed oral keratinocyte cultures. *J Periodontal Res* 1997;32:447-54.
82. Bernzweig E, Payne JB, Reinhardt RA, Dyer JK, Patil KD. Nicotine and smokeless tobacco effects on gingival and peripheral blood mononuclear cells. *J Clin Periodontol* 1998;25:246-52.
83. Wang H, Liao H, Ochani M, Justiniani M, Lin X, Yang L et al. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis. *Nat Med* 2004; 10: 1216-1221.
84. Pavlov VA, Tracey KJ. Neural regulators of innate immune responses and inflammation *Cell Mol Life Sci* 2004; 61; 2322-2331.
85. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkine GI, Watkins LR et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 2000; 405: 458-462.